ミニレビュー

光合成生物の炭素代謝の多様性 —海洋微細藻類の研究から—[†]

辻 敬典, 白岩善博

(筑波大学大学院 生命環境科学研究科)

Key Words : β -carboxylation, C_3 cycle, C_4 photosynthesis, phosphoenolpyruvate carboxylase, photosynthetic carbon assimilation, pyruvate carboxylase, carbon-14

全ての真核光合成生物は、共生により葉緑体 (= 光合成の能力) を獲得した。共生による葉緑体の獲得は、複数の真核生物の系統で独立して起こったため、系統的に異なる様々な真核生物が光合成の能力を獲得した¹⁾。また、共生時に取り込まれた共生体 (葉緑体) の起源も、シアノバクテリア、紅藻、緑藻など多岐にわたる。例えば、最もよく研究されている陸上植物の葉緑体は原核生物 (核膜、葉緑体、ミトコンドリアをもたない) であるシアノバクテリア起源だが、海洋で繁栄している珪藻やハプト藻の葉緑体は、真核藻類 (核、葉緑体、ミトコンドリアを有し、それぞれ固有の DNA をもつ) である紅藻に由来する¹⁾。これまでは、陸上植物を中心に光合成の研究が進められ、その代謝モデルが多様な藻類に当てはまると理解されてきた。しかし近年になり、珪藻やハプト藻などが陸上植物とは大きく異なるゲノム構造を持つことが示され、これらの藻類に陸上植物の代謝モデルをそのまま適用することはできないことが認識されつつある²⁾。本稿では、筆者らが行ったハプト藻 (ハプト植物) の研究も含め、近年明ら

かにされた海産藻類の光合成炭素代謝の特徴について紹介する。

藻類の光合成の研究で、近年最も注目を集めたのは珪藻であろう。珪藻は、紅藻を取り込むことで葉緑体を獲得した不等毛植物門というグループに属し、淡水から海洋まで広く生息する。2000 年に、 ^{14}C -トレーサ実験の結果に基づき、海産珪藻 *Thalassiosira weissflogii* が C_4 光合成を行うことが報告された^{3), 4)}。これは、単細胞藻類は全て C_3 光合成を行うというこれまでの常識を覆す報告であった。*T. weissflogii* で提唱されている C_4 光合成のモデル (図 1) では、最初に細胞質に局在するホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ (PEPC) が HCO_3^- を固定し、 C_4 化合物が生じる。続いて、葉緑体内に輸送された C_4 化合物が、ホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ (PEPCK) により脱炭酸され、Rubisco に CO_2 が供給固定され、カルビン・ベンソン回路 (C_3 回路) を経て炭素代謝系が進行する (図 1)。その後の別研究グループの報告では、*T. weissflogii* は、完全な C_4 光合成ではなく、 C_3 - C_4 の中間型の光合成を行うことが示唆されている⁵⁾。珪藻の C_4 光合成に関しては、関与する酵素の細胞内局在が明らかにされていないことや、 ^{14}C トレーサ実験と阻害剤を用いた実験で矛盾する結果が得られていることも指摘されており⁶⁾、今後の詳細な解析が必要である。

筆者らは、ハプト植物門に属する円石藻 *Emiliania huxleyi* の光合成 CO_2 固定経路の解析を行った。ハプト植物も、珪藻と同じく紅藻の二次共生により葉緑体を獲得したが、珪藻との系統関係はまだはっきりしていない。近年の研究により、ハプト藻は海洋で最も存在量が多い藻類であることが報告されている⁷⁾。中でも、円石藻は光合成に加えて石灰化による CO_2 固定も行うことと、海洋で大規模増殖 (ブルーム) を引き起こすことから、地球規模の炭素循環に影響を及ぼす重要な藻類である。円石藻の代表種である *E. huxleyi* は、2004 年に Expressed Se-

[†]Diversity of Primary Carbon Metabolism in Marine Microalgae.

Yoshinori TSUJI and Yoshihiro SHIRAIWA : Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba, 1-1-1 Ten-noudai, Tsukuba-shi, Ibaraki Pref. 305-8572, Japan

図1 珪藻 *T. weissflogii* で提唱されている C_4 光合成のモデル図。

細胞質に局在する PEPC が HCO_3^- を固定し、葉緑体内に局在する PEPCK が C_4 化合物を脱炭酸して CO_2 を作り出し、それが Rubisco により固定される。PEP, ホスホエノールビルビン酸; OAA, オキサロ酢酸; Malate, リンゴ酸; PEPC, PEP カルボキシラーゼ; PEPCK, PEP カルボキシキナーゼ。

sequence Tag (EST) の解析がなされ⁸⁾, 2009 年にはドラフトゲノムも公開された⁹⁾。EST 解析の結果から, *E. huxleyi* では, 珪藻と同様に C_4 光合成を行う可能性が指摘されていた。しかし, EST やゲノムの情報から C_4 光合成が機能しているか否かを断定することはできず, ^{14}C トレーサ実験による光合成初期産物の解析が必要であった。そこで筆者らは, *E. huxleyi* の光合成初期代謝を調べるために, $NaH^{14}CO_3$ を基質としたトレーサ実験を行った。その結果, まず最初に C_3 回路で CO_2 を固定し C_3 化合物を合成する (C_3 光合成という) ものの, 並行してその C_3 化合物が別の CO_2 固定反応により C_4 化合物 (Asp) へと変換されていることを示した¹⁰⁾。この C_3 化合物を C_4 化合物に変換する反応は, 「 β -カルボキシレーション」と呼ばれるが, *E. huxleyi* では, C_4 化合物に取り込まれる ^{14}C の割合が比較的多いことから, β -カルボキシレーションの寄与が大きいと考えられる。

主な β -カルボキシレーション酵素としては, PEPCK, PEPC, ピルビン酸カルボキシラーゼ (PYC) の3種が知られている。真核生物においては, PEPCK は全ての生物に普遍的に存在するが, PEPC は植物に特有であり, PYC は動物などの非光合成生物に特有の酵素と考え

られてきた。*E. huxleyi* の EST から β -カルボキシレーション酵素を検索したところ, PEPCK 及び PEPC 遺伝子のみならず, PYC 遺伝子も見つかった¹⁰⁾。ウェスタンブロット解析により, *E. huxleyi* の PYC は遺伝子として存在するだけではなく, タンパク質として発現していることも確認した(辻, 未発表)。そのため, *E. huxleyi* では, 「植物型 (PEPC)」と「動物型 (PYC)」の両方の代謝酵素を合わせ持つことが特徴であると言える。興味深いことに, 配列解析からは PEPC がミトコンドリアに局在し, PYC が葉緑体に局在することが予測された¹⁰⁾。

PYC は, ピルビン酸 (C_3 化合物) に HCO_3^- を付加し, オキサロ酢酸 (C_4 化合物) を合成する。*E. huxleyi* では, C_3 回路の初期産物 (3-ホスホグリセリン酸, 3-PGA) を, PYC の基質であるピルビン酸に変換する3種の酵素が葉緑体に局在すると予測された¹⁰⁾。そのため, *E. huxleyi* の葉緑体には, C_3 回路で生成した 3-PGA をピルビン酸に変換し, さらに PYC によりオキサロ酢酸へと代謝する経路が存在すると推測された (図2)。このように, 葉緑体内で C_3 化合物を C_4 化合物まで代謝する経路は, 陸

図2 ^{14}C -トレーサ実験及びゲノム情報から推測された円石藻 *E. huxleyi* の葉緑体における C_4 化合物の生成経路。

点線で囲った部分が, 陸上植物などには存在しない C_4 化合物合成経路にあたる。各酵素の局在は, N 末端移行シグナルの予測に基づくため, 今後実験的に確かめる必要がある。3-PGA, 3-ホスホグリセリン酸; PYR, ピルビン酸; PYC, ピルビン酸カルボキシラーゼ; OAA, オキサロ酢酸; Asp, アスパラギン酸; Triose-P, トリオースリン酸。

上植物や緑藻などでは存在しない特異的な代謝系である。今後は *E. huxleyi* が持つ「葉緑体内の C_4 化合物合成経路」の全反応段階を実験的に証明し、さらにその代謝経路の生理的意義を明らかにする必要がある。

筆者らはこれまで植物は持たないと考えられてきた PYC 遺伝子を円石藻 *E. huxleyi* で見つけた。しかし、*E. huxleyi* が例外的に PYC を獲得したのか否か? という疑問が浮かぶ。ゲノムが解読されている様々な真核藻類から PYC 遺伝子を検索してみたところ、PYC 遺伝子は、陸上植物には存在しないものの、緑藻、珪藻、褐藻などの幅広い分類群の藻類で見つかった。特に、陸上植物の祖先的な系統である緑藻に存在し、陸上植物には存在しないということは、陸上植物が進化の過程で PYC を失ったことを示唆する。すなわち PYC は、*E. huxleyi* が例外的に獲得したのではなく、むしろ陸上植物が例外的に失ったと考える方が妥当と考えられる。

冒頭で紹介したように、真核光合成生物は、共生で葉緑体を獲得した集団であり、多様な生物群が含まれる。そのような背景を考慮すると、陸上植物の代謝モデルを「植物型」として全ての真核光合成生物に当てはめることには無理がある。この問題は、筆者らの研究や、珪藻のゲノム解析²⁾からも指摘されている。おそらく、PYC だけではなく、その他多くの酵素についても、陸上植物と真核藻類では、大きな違いがあると考えられる。今後は、これまで見逃されていた真核藻類のゲノム解析・生化学的研究が

進むことで、真核光合成生物の代謝経路の多様性や、複雑な進化の道筋が明らかになることが期待される。

文 献

- 1) 井上 勲, 藻類 30 億年の自然史—藻類から見る生物進化・地球・環境 第 2 版, pp.448-450, 東海大学出版会, 神奈川 (2007)
- 2) Kroth, P. G., Chiovitti, A., Gruber, A., Martin-Jezequel, V., Mock, T., Parker, M.S., Stanley, M. S., Kaplan, A., Caron, L., Weber, T., Maheswari, U., Armbrust, E. V. and Bowler, C., *PLoS ONE*, **3**, e1426 (2008)
- 3) Reinfelder, J. R., Kraepiel, A. M. L. and Morel, F. M. M., *Nature*, **407**, 996-999 (2000)
- 4) Morel, F. M. M., Cox, E. H., Kraepiel, A. M. L., Lane, T. W., Milligan, A. J., Schapendonth, I., Reinfelder, J. R. and Tortell, P. D., *Funct. Plant Biol.*, **29**, 301-308 (2002)
- 5) Roberts, K., Granum, E., Leegood, R. C. and Raven, J. A., *Plant Physiol.*, **145**, 230-235 (2007)
- 6) Raven, J. A., *Photosynth. Res.*, **106**, 123-134 (2010)
- 7) Liu, H., Probert, I., Uitz, J., Claustre, H., Aris-Brosou, S., Frada, M., Not, F. and Vargas, C., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **106**, 12803-12808 (2009)
- 8) Wahlund, T. M., Hadaegh, A. R., Clark, R., Nguyen, B., Fanelli, M. and Read, B. A., *Mar. Biotechnol.*, **6**, 278-290 (2004)
- 9) Joint Genome Institute Homepage, <http://genome.jgi-psf.org/Emihu1/Emihu1.home.html>
- 10) Tsuji, Y., Suzuki, I. and Shiraiwa, Y., *Plant Cell Physiol.*, **50**, 318-329 (2009)